

KARAKTERISTIK LIPID TERSTRUKTUR HASIL TRANSESTERIFIKASI ENZIMATIK ANTARA MINYAK IKAN DAN MINYAK KELAPA MURNI

Arief Mulyawan*, Dase Hunaefi, Purwiyatno Hariyadi

¹Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian,
Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Dramaga, Jalan Lingkar Akademik,
Bogor 16002, Telepon (0251) 8620517, Fax (0251) 8623203

*Korespondensi: phariyadi@apps.ipb.ac.id

Diterima: 4 Juli 2018/ Disetujui: 28 Agustus 2018

Cara sitasi: Mulyawan A, Hunaefi D, Hariyadi P. 2018. Karakteristik lipid terstruktur hasil transesterifikasi enzimatik antara minyak ikan dan minyak kelapa murni. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 21(2): 317-327.

Abstrak

Minyak ikan dan minyak kelapa murni (*virgin coconut oil*; VCO) memiliki karakteristik fisika kimia yang berbeda dan memiliki manfaat fungsional besar. Transesterifikasi enzimatik antara minyak ikan dan VCO sangat berpotensi menghasilkan lipid terstruktur dengan karakteristik yang baru. Tujuan penelitian ini adalah menetapkan lama proses reaksi transesterifikasi enzimatik terbaik untuk menghasilkan lipid terstruktur tipe MLM (medium-long-medium) dan menentukan karakteristik kimia dan fisik lipid terstruktur. Analisis yang dilakukan yaitu komposisi asam lemak dan triasilgliserol (TAG) serta analisis titik leleh. Enzim yang digunakan adalah Lipozym *Thermomyces lanuginosa* (TL IM) yang spesifik terhadap sn-1 dan sn-3. Hasil penelitian menunjukkan bahwa waktu terbaik reaksi transesterifikasi enzimatik pada perbandingan substrat 1:1 (basis mol), suhu reaksi 50°C, kecepatan pengadukan 200 rpm, menggunakan konsentrasi enzim 10% (terhadap substrat) dan *molecular sieve* 2% (terhadap substrat) adalah 30 menit. Lipid terstruktur yang dihasilkan mempunyai sifat leleh yang mirip dengan campuran (*blending*, 1:1 basis mol) antara minyak ikan dan VCO; berturut-turut adalah 13,43°C (dengan titik awal 2,92°C, titik akhir 20,57°C dan energi sebesar 392,01 mJ) dan 13,98°C (dengan titik awal -1,90°C, titik akhir 18,06°C dan energi sebesar 301,28 mJ). Reaksi transesterifikasi juga menyebabkan perubahan komposisi TAG serta diidentifikasi terdapat satu TAG baru yang terbentuk. TAG dengan ECN 26 dan ECN 30, yang merupakan TAG potensial untuk MLM, mengalami peningkatan konsentrasi.

Kata kunci : lipozym tl im, titik leleh, triasilgliserol

Structured Lipid Characteristics of Enzymatic Transesterification Between Fish Oil and Virgin Coconut Oil

Abstract

Fish oil and virgin coconut oil (VCO) have different physicochemical characteristics and great functional benefits. Enzymatic transesterification of both oils has been predicted to obtain both benefits of fish oil and VCO. The purpose of this study was to examine the best time of the enzymatic transesterification reaction process during the production process of structured lipid type MLM (medium-long-medium) and to characterize those structured lipids. Lipozym *Thermomyces lanuginosa* (TL IM) which is specific to sn-1 and sn-3 was used. Fatty acid and triacylglycerol (TAG) composition and melting point analysis were determined. The results showed that the best time of enzymatic transesterification reaction achieved on the substrate ratio 1:1 (mole based) with reaction temperature condition 50°C, 200 rpm, 10% enzyme and 2% *molecular sieve* from substrate was 30 minutes. Structured lipids have melting properties similar to mixtures (*blending*, 1:1 mole based) between fish oil and VCO, respectively, 13.43°C (onset 2.92°C, end set 20.57°C and absorbed energy 392.01 mJ) and 13.98°C (onset -1.90°C, endset 18.06°C and absorbed energy 301.28 mJ). Enzymatic transesterification resulted the changes the TAG composition with the concentration of some TAG increases, some decreases and it formed new TAG. ECN 26 and ECN 30 include TAG groups whose concentrations are increasing as well as having potential MLM type TAGs.

Keywords : lipozym tl im, melting point, triacylglycerol

PENDAHULUAN

Minyak ikan merupakan komponen lemak dalam jaringan tubuh ikan yang telah di ekstraksi dalam bentuk minyak. Minyak ikan dinyatakan sebagai salah satu sumber asam lemak tak jenuh jamak omega 3, khususnya EPA (Cis-5,8,11,14,17-Eikosapentaenoat) dan DHA (Cis-4,7,10,13,16,19-Dokosaheksaenoat). Asam lemak omega 3 tidak dapat disintesis oleh tubuh manusia sehingga harus dipasok dari makanan sehari-hari. Menurut Estiasih (2009), EPA dan DHA sebagai asam lemak esensial berperan penting dalam pencegahan penyakit jantung, pencegahan dan terapi penyakit kanker, menurunkan rasa nyeri akibat inflamasi dan berpengaruh terhadap perkembangan otak dan retina.

Penelitian terkait minyak ikan dari berbagai perairan di Indonesia telah banyak dilaporkan, antara lain produksi dan karakterisasi minyak ikan dari hati ikan cucut, pari mondol dan kulit ikan swangi (Insani *et al.* 2017; Rozi *et al.* 2016; Widiyanto *et al.* 2015; Huli *et al.* 2014), karakteristik dan pemurnian minyak ikan hasil samping penepungan ikan sardin dan ikan makarel, peningkatan mutu dan karakteristik minyak ikan sardin (*Sardinella* sp.) (Feryana *et al.* 2014; Dari *et al.* 2017; Hulu *et al.* 2017; Bija *et al.* 2017), minyak ikan dari lemak jeroan hasil samping pengolahan salai patin siam (Kamini *et al.* 2016), serta minyak ikan hasil (*pre-cooking*) industri pengalengan ikan lemuru *Sardinella lemuru* (Sari *et al.* 2015).

Virgin coconut oil (VCO) memiliki karakteristik fisik dan kimia yang jauh berbeda dengan minyak ikan, di antaranya adalah kandungan asam laurat dan komposisi asam lemak rantai medium yang tinggi dan berat molekul yang rendah. Menurut Kamariah *et al.* (2008), VCO merupakan minyak yang baik untuk kesehatan, kecantikan dan menambah energi. VCO memiliki utilitas berlimpah pada makanan fungsional, makanan sehat, farmasi, *nutriceutical*, makanan bayi dan *cosmoceutical*, dengan demikian VCO sangat multifungsi dan berguna dalam kehidupan manusia. Asam lemak rantai medium yang terdapat pada VCO memiliki karakteristik metabolisme yang sama seperti glukosa dalam

tubuh dan cenderung tidak tersimpan sebagai lemak.

Minyak kelapa murni (*virgin coconut oil*; VCO) memiliki karakteristik fisika kimia yang berbeda dan manfaat fungsional besar. Kedua manfaat dari minyak ikan dan VCO apabila dicampur dan dimodifikasi lipid secara transesterifikasi sangat berpotensi memberikan manfaat yang jauh lebih besar. Modifikasi lipid merupakan perubahan pada komposisi maupun distribusi posisi asam lemak untuk memberikan berbagai manfaat antara lain pada perbaikan sifat fisik, sifat fungsional, dan sifat nutrisi. Produk hasil modifikasi lipid dapat disebut sebagai lipid terstruktur (*Structured Lipids*). Menurut Hariyadi (2009) lipid terstruktur merupakan suatu triasilgliserol (TAG) yang mengandung campuran dari asam lemak dengan karakteristik tertentu dan teresterifikasi dalam kerangka gliserol untuk tujuan memberikan fungsionalitas tertentu, baik fungsionalitas kesehatan maupun fungsionalitas fisik lainnya.

Produksi lipid terstruktur dengan posisi sn-1 dan sn-3 adalah asam lemak jenuh rantai *medium* (8-12 atom karbon) dan posisi sn-2 adalah asam lemak jenuh rantai *long* atau asam lemak tidak jenuh rantai *long* (14-24 atom karbon) atau sering disebut dengan *Medium-Long-Medium* (MLM) saat ini semakin diminati (Arifin *et al.* 2010). MLM ini memiliki nilai kalori rendah sehingga sangat cocok untuk mengendalikan obesitas, *malabsorption* lemak dan gangguan metabolisme lainnya (Nunes *et al.* 2011) serta tidak memiliki efek toksikologi (Hayes *et al.* 1994). Asam lemak rantai *medium* (M) pada posisi sn-1 dan sn-3 sangat mudah terhidrolisis oleh lipase pankreas, diserap dalam usus dan dibawa ke dalam hati. Asam lemak rantai M pada posisi sn-1 dan sn-3 dimetabolisme menjadi sumber energi cepat sehingga tidak mudah terakumulasi menjadi lemak tubuh dan selanjutnya 2-monoasilgliserol (MAG) dengan asam lemak rantai *long* (L) pada posisi sn-2 siap diserap (Lee *et al.* 2006). Reaksi transesterifikasi yang dikatalis oleh enzim lipase lebih efisien daripada proses kimia karena memiliki kemampuan selektivitas dan spesifitas sn-1 dan sn-3, dapat dilakukan pada reaksi tanpa pelarut dan suhu yang lebih rendah

(Sharma *et al.* 2001) dan mempertahankan posisi sn-2 (Hoy dan Xu, 2001) serta dapat dilakukan pada kondisi ringan (*mild*) dan dapat mengurangi penggunaan energi serta cenderung lebih aman terhadap lingkungan pada penerapannya (Kim dan Akoh 2015). Enzim *Thermomyces lanuginosa* (TL IM) telah digunakan untuk asidolisis antara minyak jagung dengan asam kaprilat, mampu menginkorporasi 21,5% mol asam kaprilat pada kondisi optimal (Ozturk *et al.* 2010) serta asidolisis antara minyak ikan dan asam kaprilat mampu menginkorporasi 50% mol asam kaprilat (Sousa *et al.* 2014). Asidolisis antara minyak ikan dengan asam laurat mampu menginkorporasi 44,27% asam laurat pada kondisi optimal (Subroto *et al.* 2008).

Penelitian mengenai sintesis TAG tipe MLM telah banyak dilakukan dengan menggunakan berbagai jenis substrat antara lain minyak alpukat dan asam kaprilat (Caballero *et al.* 2014), substrat trikaprilat dan trilinolenat (Bai *et al.* 2013), minyak zaitun dan asam kaprilat (Nunes *et al.* 2011), minyak kanola dan asam kaprilat (Wang *et al.* 2012; Savaghebi *et al.* 2012) dan minyak kedelai dan asam kaprilat (Qin *et al.* 2014), minyak jagung dan asam kaprilat (Ozturk *et al.* 2010), palm stearin dengan minyak ikan lemuru (Hastuti *et al.* 2003), minyak ikan dengan asam kaprilat (Sousa *et al.* 2014), minyak ikan dan asam laurat (Subroto *et al.* 2008 dan Mamuaja 2015). Tujuan penelitian ini adalah menetapkan lama proses reaksi transesterifikasi enzimatis terbaik untuk menghasilkan lipid terstruktur tipe MLM (medium-long-medium) dan menentukan karakteristik kimia dan fisik lipid terstruktur.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah minyak ikan salmon komersial (Golden Bear Laboratory, USA), *virgin coconut oil* (VCO) komersial (Herba Bagoes, Indonesia), lipozym *Thermomyces lanuginosus im-mobilization* (TL IM) (Novozyme A/S, Bagsvaerd, Denmark), TAG standar Caprilat-Caprilat (CCC) (merck), Caprat-Caprat-Caprat (CaCaCa) (merck), Laurat-Laurat-Laurat (LaLaLa) (merck) dan Miristat-

Miristat-Miristat (MMM) (merck), *molecular sieve* (sigma aldrich), kertas saring whatman no.4, klorofom (merck) dan acetone (merck).

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik, *high performance liquid chromatography* (HPLC) Hewlett Packard Series 1100 dengan detektor Indeks Refraksi (Refraksi Index, RI) dengan dua kolom C-18 (Microsorb MV dan Zorbax Eclipse XDB-C18, 4,6 x 250, ukuran partikel 5 μ m) yang dipasang berseri (Agilent, North America, USA), *gas chromatography* (GC) dengan *flame ionization detector* (FID) (Shimadzu 2010 Plus, Jepang), *orbital shaker*, *spectrophotometer* UV-2450 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Jepang) dan *differential scanning calorimetry* (Model TA-60, Newcastle, DE).

Metode Penelitian

Transesterifikasi minyak ikan dengan *virgin coconut oil* (VCO)

Transesterifikasi enzimatis minyak ikan dan vco mengacu pada metode Xu *et al.* (2002), Subroto *et al.* (2008), dan Ozturk *et al.* (2010). Minyak ikan dan VCO (1:1 basis mol) dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang sudah diselimuti alumunium foil dan dihomogenkan selama 10 menit. Sampel ditambahkan lipozym TL IM sebanyak 10% dari substrat dan *molecular sieve* 2% dari substrat. Sampel diinkubasi ke dalam *orbital shaker* dengan kecepatan 200 rpm pada suhu 50°C selama 3; 5; 15; 30; 120; 240 menit. Larutan hasil reaksi disaring dengan kertas saring *whatman* no. 4.

Analisis komposisi asam lemak

Analisis komposisi asam lemak mengacu pada metode AOAC (2012), menggunakan *gas chromatography*. Minyak ditimbang sebanyak 20-30 mg dalam tabung bertutup teflon, kemudian ditambahkan 1 mL NaOH 0,5 N dalam metanol. Sampel dipanaskan dalam penangas air selama 20 menit, ditambahkan 2 mL BF₃ 20% dan dipanaskan kembali selama 20 menit, didinginkan pada suhu ruang. Sampel ditambahkan 2 mL NaCl jenuh dan 1 mL isooktan dan dihomogenkan, kemudian lapisan isooktan dipipet ke dalam tabung yang berisi 0,1 g Na₂SO₄ anhidrat selama 5 menit dan disaring menggunakan mikrofilter,

pengujian komposisi asam lemak dilakukan dengan cara menginjeksi 1 μL sampel ke dalam *gas chromatography*. Asam lemak yang ada dalam metil ester (FAME) akan diidentifikasi oleh *flame ionization detector* (FID) dengan kolom *cyanopropyl methyl sil* (capillary column), panjang kolom 60 m, \varnothing dalam : 0,25 mm, 0,25 μm *film thickness*, laju alir N_2 : 30 mL/menit, laju alir He : 30 mL/menit, laju alir H_2 : 40 mL/menit, laju alir udara : 400 mL/menit, suhu injeksi: 220°C, suhu detektor: 240°C, suhu kolom: program temperatur dengan suhu awal 125°C ditahan selama 5 menit, kemudian suhu dinaikkan menjadi 186°C ditahan selama 5 menit dengan laju 10°C/menit, suhu dinaikkan kembali menjadi 205°C ditahan selama 10 menit dengan laju 5°C/menit, suhu dinaikkan menjadi 205°C ditahan selama 10 menit dengan laju 5°C/menit, suhu dinaikkan menjadi 225°C ditahan selama 7 menit dengan laju 3°C/menit dengan *split ratio* 1:80 dan *linier velocity*: 23,6 cm/sec. Analisis dihitung berdasarkan rumus:

$$\text{b/b FAME} = \frac{\frac{\text{Area sampel}}{\text{Area standar}} \times \frac{\text{Konsentrasi standar}}{100} \times \text{Volume sampel} \times 100\%}{\text{Gram sampel}}$$

Penentuan persentase asam lemak:

$$\% \text{ b/b Asam lemak} = \frac{\text{Berat molekul asam lemak}}{\text{Berat molekul FAME}} \times \% \text{ b/b FAME}$$

Analisis komposisi triasilgliserol (TAG)

Analisis Komposisi TAG mengacu pada metode AOCS *Official Methods* Ce 5c (1997) yang dimodifikasi. Komposisi TAG minyak ikan, VCO, campuran minyak ikan dengan VCO dan hasil transesterifikasi enzimatis, masing-masing dianalisis menggunakan HPLC Hewlett Packard Series 1100 dengan detektor Indeks Refraksi (Refraksi Index, RI). Sampel dilarutkan dalam aseton dan kloroform dengan perbandingan (2:1 v/v) dibuat dengan konsentrasi 5%, disuntikkan ke dalam HPLC sebanyak 20 μL . HPLC yang digunakan memiliki tipe pompa isokratik dengan laju aliran fase gerak (Aseton:asetonitril, 85:15 v/v) 0,8 mL/menit. Kolom yang digunakan adalah dua kolom C-18 (Microsorb MV dan

Zorbax Eclipse XDB-C18, 4,6 x 250, ukuran partikel 5 μm) yang dipasang berseri.

Analisis titik leleh

Analisis titik leleh dilakukan dengan menggunakan instrumen *differential scanning calorimetry* (Model TA-60, TA instruments, New castle, DE) sesuai prosedur Saberi *et al.* (2011) dengan modifikasi perlakuan suhu dari Fasina dan Colley (2008) dan Kim *et al.* (2015). Sampel 4-5 mg dimasukkan dalam *pan* aluminium kemudian ditutup secara hermetis. Proses pemanasan (*heating*) dilakukan pada suhu -10°C hingga suhu 80°C dan ditahan pada suhu 80°C tersebut selama 10 menit. Proses pemanasan ini akan didapat kurva pelelehan sehingga diperoleh beberapa puncak titik leleh (*melting peak*). Proses pendinginan (*cooling*) dilakukan dengan menurunkan suhu dari 80°C menjadi suhu -40°C kemudian ditahan 10 menit pada suhu -40°C kemudian dilakukan pemanasan ulang (*re-heating*) ke suhu 80°C. Proses pendinginan diperoleh beberapa puncak titik kristalisasi sampel (*cristalization peak*). Laju pendinginan dan laju pemanasan proses pengukuran ialah 5°C/menit. Gas nitrogen (N_2) digunakan sebagai *purge gas* dengan laju alir 50 mL/menit. Hasil analisis DSC ditampilkan dalam bentuk kurva dengan jenis reaksi *endoterm down* dan *eksoterm up*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Bahan Baku

Karakteristik minyak ikan dan VCO dilakukan untuk melihat sifat fisika kimia. Hasil analisis fisika kimia dapat dilihat pada (Tabel 1). Kadar air minyak ikan dan VCO bahan secara berturut-turut memiliki nilai 0,05 \pm 0,01% b/b dan 0,12 \pm 0,01% b/b. Kadar air bahan baku minyak ikan dan kadar air bahan baku VCO telah memenuhi standar kadar air minyak ikan menurut FAO/WHO/CAC/RS 19-1981 rev. 1 (1989) dan standar kadar air VCO berdasarkan standar *Asian Pacific Coconut Council* (APCC). Kamariah *et al.* (2008) melaporkan bahwa kadar air VCO asal Malaysia yaitu 0,05% s.d. 0,11% dengan rata-rata 0,09 \pm 0,0211%, sedangkan kadar ALB pada 10 produk VCO Malaysia menurut Kamariah *et al.* (2008) adalah 0,2% sampai

1,2% dengan rata-rata $0,38 \pm 0,3487\%$. Kadar air yang tinggi dapat meningkatkan terjadinya reaksi hidrolisis sehingga menghasilkan asam lemak bebas. Kadar air dari kedua bahan baku juga telah memenuhi standar minyak ikan dan VCO dari *International Fish Oil Standards/IFOS* (2011) dan standar APCC.

Komposisi asam lemak minyak ikan dan VCO paling banyak adalah DHA dan asam laurat (Tabel 1). DHA menjadi asam lemak yang paling banyak dan berada di sn-2. Lopez *et al.* (2015) mengatakan bahwa posisi sn-2 pada minyak ikan salmon adalah DHA dengan jumlah 80-86%. Analisis regiospesifik dari *fillet* TAG menunjukkan bahwa 80% DHA terletak di posisi sn-2. Distribusi posisi asam lemak dalam fosfatidilkolin (PC), menunjukkan bahwa 90% DHA terletak di sn-2. Jumlah DHA di sn-2 pada TAG minyak ikan salmon adalah 62-76% (Standal *et al.* 2009; Miller *et al.* 2006). Asam laurat di dalam VCO tersebar di sn-1, sn-2 dan sn-3. Kumar *et al.* (2015) melakukan analisis komposisi TAG VCO asal India, dari 7 TAG

yang terbesar pada sn-1 terdapat 4 asam laurat, sn-2 terdapat 3 asam laurat dan sn-3 terdapat 4 asam laurat. Neff *et al.* (2001) juga melakukan analisis komposisi TAG *coconut oil*, dari 7 TAG terbesar pada sn-1 terdapat 5 asam laurat, sn-2 terdapat 7 asam laurat dan sn-3 terdapat 1 asam laurat.

Komposisi triasilgliserol

Reaksi transesterifikasi yang dikatalisis enzim lipase dapat dilakukan pada media yang berbeda, baik dalam pelarut organik maupun dalam sistem bebas pelarut organik. Sintesis dalam sistem bebas pelarut organik menawarkan beberapa keuntungan meliputi dampak lingkungan yang minimal dengan menghindari penggunaan pelarut organik yang toksik dan mudah terbakar, penghematan biaya yang signifikan karena tidak adanya proses lebih lanjut serta tahap purifikasi yang lebih mudah dan lebih sedikit (Chaibakhsh *et al.* 2009).

Komposisi TAG substrat pada berbagai waktu reaksi (Gambar 1) memperlihatkan

Tabel 1 Analisis fisika kimia minyak ikan dan VCO
(Table 1 Physicochemical analysis of fish oil and VCO)

Karakteristik	Bahan Baku		Standar (%)
	Minyak Ikan	VCO	
Komposisi AL (% b/b)			
C8:0 (Caprilat, C)	nd	8.20 ± 0.01	-
C10:0 (Caprat, Ca)	nd	6.12 ± 0.02	-
C12:0 (Laurat, La)	0.12 ± 0.02	50.01 ± 0.04	-
C14:0 (Miristat, M)	5.18 ± 0.04	16.37 ± 0.04	-
C16:0 (Palmitat, P)	12.20 ± 0.01	6.18 ± 0.05	-
C16:1 (Palmitoleat, Po)	6.13 ± 0.05	nd	-
C18:0 (Stearat, S)	2.07 ± 0.04	1.63 ± 0.04	-
C18:1n9c (Oleat, O)	5.07 ± 0.03	3.85 ± 0.04	-
C20:5n3 (Cis-5,8,11,14,17- EPA)	12.86 ± 0.05	nd	-
C22:6n3 (Cis-4,7,10,13,16,19-DHA)	14.21 ± 0.03	nd	-
Asam Lemak Lainnya	4.93 ± 0.02	0.86 ± 0.05	-
Kadar Air (% b/b)	0.05 ± 0.01	0.12 ± 0.01	$0.2^1, 0.5^2$ dan $\leq 0.5^3$
Kadar ALB (% b/b)	0.09 ± 0.01	0.02 ± 0.01	$\leq 1.5^4$
Titik Leleh ($^{\circ}\text{C}$)	-7.65	25.68	-

Keterangan : *nd = Tidak Terdeteksi, **FA = Fatty Acids

FAO/WHO/CAC/RS 19-1981 rev. 1 (1989)¹; Asian Pacific Coconut Council (APCC)²; Asian

adanya peningkatan dan penurunan konsentrasi beberapa TAG serta terbentuknya TAG baru. Hasil ini sejalan dengan hasil-hasil penelitian transesterifikasi enzimatis dengan bahan baku minyak sawit dan minyak inti sawit (Chen *et al.* 2007), dengan bahan baku minyak bunga matahari dan minyak kedelai terhidrogenasi sempurna (FHSO) (Li *et al.* 2010).

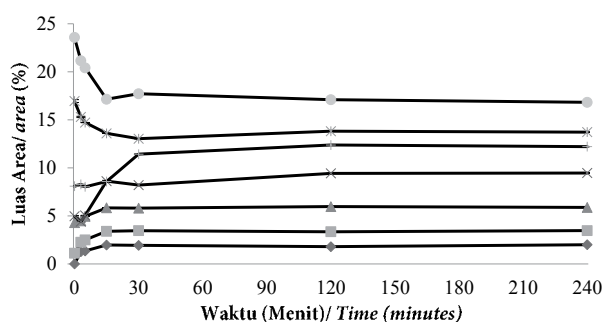
Proses transesterifikasi menyebabkan terjadinya perubahan TAG pada substrat. Perubahan ini mengindikasikan bahwa terjadinya pertukaran asil antara TAG dari minyak ikan dengan TAG dari VCO selama reaksi transesterifikasi enzimatis. Perubahan yang optimal dalam komposisi TAG dibandingkan dengan substrat awal (0 menit reaksi) terlihat pada awal reaksi (30 menit reaksi), komposisi TAG cenderung tidak banyak berfluktuasi setelah waktu reaksi 240 menit, terjadi beberapa perubahan komposisi TAG disebabkan karena adanya reaksi hidrolisis dan esterifikasi serta asam lemak bebas (Gambar 1). TAG lebih mudah dihidrolisis daripada diasilgliserol (DAG) dan DAG dihidrolisis lebih cepat daripada monoasilgliserol (MAG) (Willis dan Marangoni 2002).

Asam lemak bebas yang berlebih di dalam larutan dapat mengakibatkan terbentuknya DAG dari reaksi antara MAG dan asam lemak bebas. TAG lebih mudah terhidrolisis sedangkan MAG lebih mudah teresterifikasi sehingga reaksi mengarah pada pembentukan

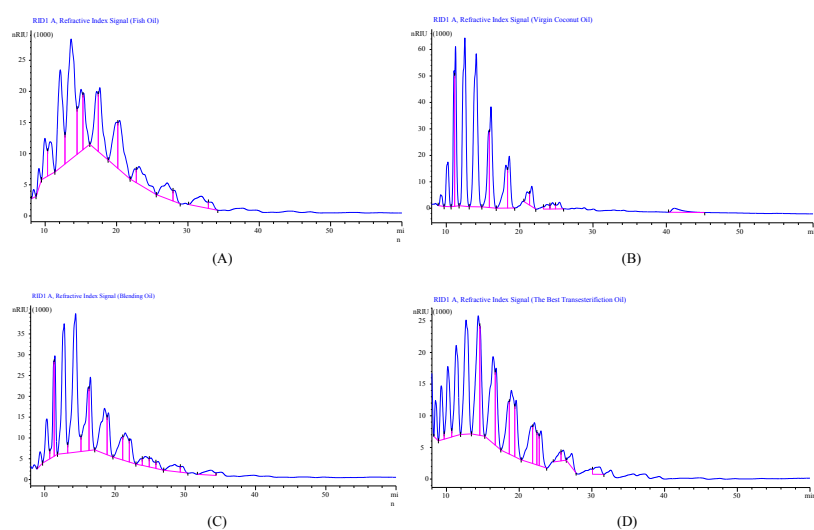
DAG baik melalui hidrolisis parsial pada TAG maupun esterifikasi parsial pada MAG. Kandungan ALB meningkat mengindikasikan bahwa reaksi interesterifikasi terjadi bersamaan dengan hidrolisis. Indikator bahwa reaksi interesterifikasi telah mencapai kesetimbangan ditandai dengan reaksi hidrolisis yang mendominasi (Chen *et al.* 2007). Reaksi interesterifikasi yang dikatalisis lipase melibatkan peranan air selama reaksi dan disertai oleh pembentukan produk TAG baru serta produk samping DAG dan ALB dalam sistem (Zhang *et al.* 2001).

Gambar 2 (A), (B), (C) dan (D) secara berturut-turut menunjukkan komposisi TAG dari minyak ikan dan VCO, campuran (*blending*, 1:1 basis mol) minyak ikan dan VCO dan lipid terstruktur. Logaritma volume elusi berbanding lurus dengan jumlah atom karbon tanpa gliserol (CN) dan berbanding terbalik dengan jumlah ikatan rangkap dalam tiga rantai lemak asil (Lai *et al.* 2005). Nilai ECN yang lebih tinggi disebabkan oleh peningkatan panjang rantai karbon asam lemak masing-masing dalam TAG, sementara penurunan tingkat ketidakjenuhan dan polaritas TAG akan memberikan nilai ECN yang lebih rendah (Firestone 1994; Moreda *et al.* 2003; Lai *et al.* 2005).

Lipid terstruktur memiliki tujuh kelompok besar spesies TAG dengan ECN C24, C26, C28, C30, C32, C34, C36. Nilai ECN ini didapat dari mencocokkan waktu retensi kromatogram sampel dengan hasil waktu



Gambar 1 Perubahan komposisi TAG pada substrat selama proses transesterifikasi
ECN 24 (◆); ECN 26 (■); ECN 28 (▲); ECN 30 (×);
ECN 32 (✱); ECN 34 (●); ECN 36 (+)
(Figure 1 Change of TAG composition on substrate during transesterification process)
ECN 24 (◆); ECN 26 (■); ECN 28 (▲); ECN 30 (×);
ECN 32 (✱); ECN 34 (●); ECN 36 (+)



Gambar 2 Kromatogram (A) minyak ikan; (B) VCO; (C) campuran (*blending*, 1:1 basis mol) minyak ikan dan VCO; dan (D) lipid terstruktur

(Figure 2 Chromatogram (A) fish oil; (B) VCO; (C) mixture (*blending*, 1:1 mole based) of fish oil and VCO; and (D) structured lipid)

Tabel 2 TAG potensial hasil transesterifikasi enzimatis
(Table 2 Potential TAG results from enzymatic transesterification)

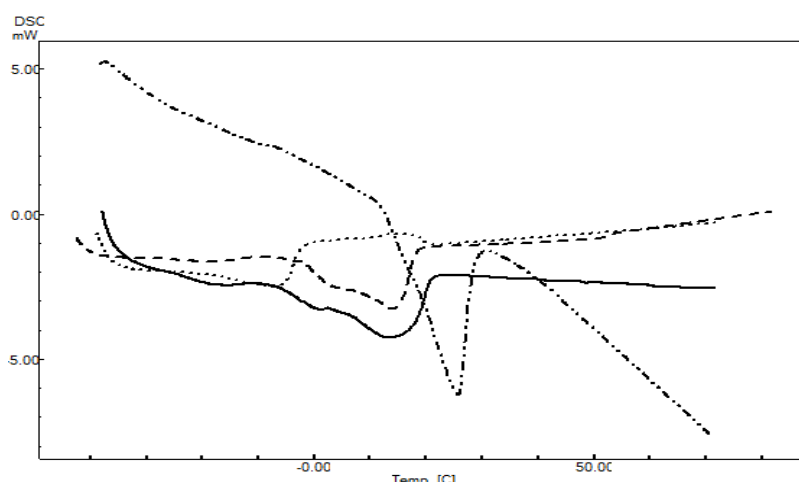
ECN	TAG Potensial
24	CCC*
26	EpCC, CEpC, CCEp, DhCC, CDhC, CCDh, CaCC, CCaC, CCCa
28	CDhDh, DhCDh, DhDhC, CEpEp, EpCEp, EpEpC, CCaCa, CaCCa, CaCaC, LaCC, CLaC, CCLa
30	CaCaCa, CaEpCa, EpCaCa, CaCaEp, CaDhCa, DhCaCa, CaCaDh, EpEpEp, DhDhDh, MCC, CMC, CCM, PoCC, CPoC, CCPo
32	CLaLa, LaCLa, LaLaC, LaCaCa, CaLaCa, CaCaLa, LaEpEp, EpLaEp, EpEpLa, LaDhDh, DhLaDh, DhDhLa, PCC, CPC, CCP, OCC, COC, CCO

retensi standar TAG. ECN dan waktu retensi standar TAG berturut-turut adalah 24 (8,186); 30 (10,600); 36 (15,291); dan 42 (24,502). ECN pada tujuh kelompok besar spesies TAG yang sudah diketahui, maka akan terdeteksi potensi TAG yang terdapat dalam ECN tersebut. TAG potensial hasil transesterifikasi enzimatis dapat dilihat pada (Tabel 2).

Lipid terstruktur memiliki titik leleh 13,43°C, titik awal 2,92°C, titik akhir 20,57°C dan menyerap energi 392,01 mJ, campuran (*blending*, 1:1 basis mol) minyak ikan dan VCO memiliki titik leleh 13,98°C, titik awal -1,90°C, titik akhir 18,06°C dan menyerap energi 301,28 mJ, minyak ikan memiliki titik leleh -7,65°C, titik awal -38,72°C, titik akhir -2,75°C dan menyerap energi 522,96 mJ, dan VCO memiliki titik leleh 25,68°C, titik awal

14,77°C, titik akhir 28,38°C dan menyerap energi 596,97 mJ (Gambar 3). Gambar 3 menjelaskan titik leleh lipid terstruktur tidak jauh berbeda dengan campuran (*blending*, 1:1 basis mol) minyak ikan dan VCO, hal ini menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh perbedaan titik leleh antara lipid terstruktur dengan campuran (*blending*, 1:1 basis mol) minyak ikan dan VCO dikarenakan memiliki komposisi asam lemak yang sama.

Titik leleh lipid terstruktur berbeda dengan minyak ikan atau VCO dikarenakan memiliki perbedaan komposisi asam lemak. Nilai titik leleh VCO hampir sama dengan titik leleh VCO pada penelitian Kamariah *et al.* (2008) yang meneliti 10 produk VCO komersial yang ada di Malaysia dan semuanya menunjukkan nilai titik leleh 24,3°C sampai 25°C. Titik leleh



Gambar 3 Kurva leleh (a) lipid terstruktur, (b) campuran (*blending*, 1:1 basis mol) minyak ikan dan VCO, (c) minyak ikan, (d) VCO

(Figure 3 Melting curve (a) structured lipid, (b) mixture (*blending*, 1:1 mole based) of fish oil and VCO, (c) fish oil, (d) VCO)

minyak ikan hampir sama dengan nilai titik leleh minyak ikan salmon adalah -70 - $13,5^{\circ}\text{C}$ (Sathivel 2005). Proses pencampuran dan transesterifikasi enzimatis mengakibatkan terjadinya perubahan titik leleh. Titik leleh lipid terstruktur dan campuran (*blending*, 1:1 basis mol) minyak ikan dan VCO dapat memberikan sifat *creaming*, *smoothing* dan plastisitas pada produk seperti margarin, saus salad dan mayones (Irianto *et al.* 2014; Rizliya dan Mendis 2014).

KESIMPULAN

Waktu reaksi transesterifikasi terbaik dengan Lipozym TL IM yaitu 30 menit. Lipid terstruktur dengan komposisi TAG ECN 24, 26, 28, 30, 32, 34 dan 36 memiliki komposisi berbeda dengan komposisi TAG hasil pencampuran minyak ikan dan VCO yaitu, TAG dengan ECN 26 dan ECN 30 mengalami peningkatan, TAG ini merupakan TAG tipe MLM. TAG dengan ECN 32 dan 34 mengalami penurunan dan terbentuk TAG baru yaitu ECN 24 yang terkonfirmasi sebagai CCC. Lipid terstruktur yang dihasilkan mempunyai sifat leleh yang mirip dengan campuran (*blending*, 1:1 basis mol) antara minyak ikan dan VCO; berturut-turut adalah $13,43^{\circ}\text{C}$ (dengan titik awal $2,92^{\circ}\text{C}$, titik akhir $20,57^{\circ}\text{C}$ dan energi $392,01\text{ mJ}$) dan $13,98^{\circ}\text{C}$ (dengan titik awal $-1,90^{\circ}\text{C}$, titik akhir $18,06^{\circ}\text{C}$ dan energi $301,28\text{ mJ}$).

DAFTAR PUSTAKA

- [AOAC] Association of Official Analytical and Chemistry. 2005. Official Method of Analysis of The Association of Official Analytical of Chemist. Arlington, Virginia (US): Association of Official Analytical and Chemists, Inc.
- [AOCS] American Oil Chemists' Society. 1997. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. Illinois: *American Oil Chemists' Society Press*, Champaign.
- Arifin N, Soo-Peng K, Long K, Chin-Ping T, Yusoff MSA. 2010. Modelling and optimization of Lipozyme RM IM-catalyzed esterification of medium- and long-chain triacylglycerols (MLCT) using response surface methodology. *Food Bioprocess Technology*. 5(1): 216–225.
- Bai S, Aziz S, Khodadadi M, Mitri CB, St-Louis R, Kermasha S. 2013. Lipase-catalyzed synthesis of medium-long medium type structured lipids using tricaprylin and trilinolenin as substrate models. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 90: 377–389.
- Bija S, Suseno SH, Uju. 2016. Pemurnian minyak ikan sardin dengan tahapan degumming dan netralisasi. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 20(1): 143–152.

- Caballero E, Soto C, Olivares A, Altamirano A. 2014. Potential use of avocado oil on structured lipids MLM-type production catalysed by commercial immobilised lipases. *PloS ONE*. 9(9): e107749
- Chaibakhsh N, Rahman MBA, Abd-Azis S, Basri M, Salleh AB, Rahman RNZRA. 2009. Optimized lipase-catalyzed synthesis of adipate ester in a solvent-free system. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 36:1149–1155.
- Chen CW, Chong CL, Ghazali HM, Lai OM. 2007. Interpretation of triacylglycerol profiles of palm oil, palm kernel oil and their binary blends. *Food Chemistry*. 100:178-191.
- Dari DW, Astawan M, Wulandari N, Suseno SH. 2017. Karakterisasi minyak ikan sardin (*Sardinella* sp.) hasil pemurnian bertingkat. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 20(3): 456-467.
- Estiasih T. 2009. Minyak ikan : Teknologi dan penerapannya untuk pangan dan kesehatan. Yogyakarta: Graha ilmu.
- FAO/WHO/CAC/RS 19 1981 rev 1. 1989. Guidelines for Characterizing Food-Grade Fish Oil. *Inform*. 9(5): 473-481.
- Fasina OO, Colley Z. 2008. Viscosity and specific heat of vegetable oils as a function of temperature : 35 to 180°C. *International Journal of Food Properties*. 11: 738-746
- Feryana IWK, Suseno SH, Nurjanah. 2014. Pemurnian minyak ikan makarel hasil samping penepungan dengan netralisasi alkali. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 17(3): 207-214.
- Firestone D. 1994. Liquid chromatographic method for determination of triglycerides in vegetable oils in terms of their partition numbers: summary of collaborative study. *Journal of Association of Analytical Communities International*. 77: 954-957.
- Hariyadi P. 2009. High grade specialty fats dari sawit sky is the limit. *Jurnal Infosawit Edisi Khusus Desember*. 2009: 41-43.
- Hastuti P, Utami T. 2003. Interesterifikasi enzimatis palm stearin dan minyak Ikan lemuru untuk membuat lemak margarin. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 14(1):14-20.
- Hayes JR, Pence DH, Scheinbach S, D'Amelia RP, Klemann LP. 1994. A review of triacylglycerol digestion, absorption, and metabolism with respect to Salatrim fat preparations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 42: 474-483.
- Hoy C, Xu X (2001) Structured Triacylglycerols. In: F.D . Gunstone, editor. Structured and Modified Lipids. pp. 209–239. New York (USA): Marcel Dekker, Inc.
- Huli LO, Suseno SH, Santoso J. 2014. Kualitas minyak ikan dari kulit ikan swangi. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 17(3): 233-242.
- Hulu DPC, Suseno SH, Uju. 2017. Peningkatan minyak ikan sardin dengan degumming menggunakan larutan NaCl. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 20(1): 199-210.
- [IFOS] International Fish oils standar. 2011. Fish oil purity standards. <http://omegavia.com>. [16 Juli 2018].
- Insani SA, Suseno SH, Jacob AM. 2017. Karakteristik squalene minyak hati ikan cucut hasil produksi industri rumah tangga, Pelabuhan Ratu. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 20(3): 494-504
- Irianto HE, Dewi AS, Giyatmi. 2014. Prospective Utilization of Fishery By-products in Indonesia. In Seafood Processing By-Products, pp. 285-313. New York (USA): Springer
- Kamariah L, Azmi A, Rosmawati A, Wai Ching MG, Azlina MD, Sivapragasam A, Tan CP dan Lai OM. 2008. Physico-chemical and quality characteristics of virgin coconut oil-a Malaysian survey. *Journal of Tropical Agriculture and Food Science*. 36(2): 1-10.
- Kamini, Suptijah P, Santoso J, Suseno SH. 2016. Ekstraksi dry rendering dan karakterisasi minyak ikan dari lemak jeroan hasil samping pengolahan salai patin siam (*Pangasius hypthalmus*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 19(3): 196-205.
- Kim BH dan Akoh CC. 2015. Recent research trends on the enzymatic synthesis of structured lipids. *Journal of Food Science*. 80(8) : C1713-C172.

- Kim JU, Ghafoor K, Ahn J, Shin S, Lee SH, Shahbaz HM, Shin HH, Kim S, Park J. 2015. Kinetic modelling and characterization of a diffusion-based time temperature indicator (TTI) for monitoring microbial quality of non pasteurized angelica juice. *Food Science Technol.* 67:143-150
- Kumar PKP, Krishna GAG. 2015. Physicochemical characteristics of commercial coconut oils produced in India. *Grasas Y Aceites.* 66(1): 1-11.
- Lai OM, Low CT, Akoh CC. 2005. Lipase-catalyzed acidolysis of palm olein and caprylic acid in a continuous bench-scale packed bed bioreactor. *Food Chemistry* 92: 527-533
- Lee JH, Lee KT. 2006. Structured lipids production. In: C. Akoh, editor. *Handbook of Functional Lipids.* pp. 489-512. USA: CRC Press
- Lei Q, Ba S, Zhang H, Wei Y, Lee JY, Li T. 2016. Enrichment of omega-3 fatty acids in cod liveroil via alternate solvent winterization and enzymatic interesterification. *Journal of Food Chemistry.* 199: 364-371.
- Li D, Adhikari P, Shin JA, Lee JH, Kim YJ, Zhu XM, Hu JN, Jin J, Akoh CC, Lee KT. 2010. Lipase-catalyzed interesterification of high oleic sunflower oil and fully hydrogenated soybean oil comparison of batch and continuous reactor for production of zero trans shortening fats. *LWT – Food Science and Technology.* 43: 458-464.
- Lopez NR, Stubhaug I, Ipharraguerre I, Rimbach G, Menoyo D. 2015. Positional distribution of fatty acids in triacylglycerols and phospholipids from fillets of atlantic salmon (*Salmo salar*) fed vegetable and fish oil blends. *Marine Drugs.* 13: 4255-4269.
- Mamujaja CT. 2015. Regiospecific analysis of enzyme interesterification of north Sulawesi skipjack (*Katsuwonus palamis*) fish oil with lauric acid using ¹H-NMR and ¹³C-NMR. I. *Journal of Chemical Technology Research. CODEN (USA): IJCRGG.* 8(6): 696-703.
- Miller MR, Nichols PD, Barnes J, Davies NW, Peacock EJ, Carter CG. 2006. Regiospecificity profiles of storage and membrane lipids from the gill and muscle tissue of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) grown at elevated temperature. *Lipids.* 41: 865-876.
- Moreda W, Pérez-Camino MC, Cert A. 2003. Improved method for the determination of triacylglycerols in olive oils by high performance liquid chromatography. *Grasas y Aceites.* 54(2): 175-179.
- Neff WE, Byrdwell WC, List GR. 2001. Triacylglycerol structures of food fats high in saturated acids by HPLC and mass spectrometry. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies.* 24(6): 837-854.
- Nunes PA, Pires-Cabral P, Guillen M, Valero F, Luna D. 2011. Production of MLM-type structured lipids catalyzed by immobilized heterologous *Rhizopus oryzae* lipase. *Journal of the American Oil Chemists' Society.* 88(4): 473-480.
- Ozturk T, Ustun G, Aksoy HA. 2010. Production of medium-chain triacylglycerols from corn oil: Optimization by response surface methodology. *Bioresource Technology.* 101: 7456-746
- Qin XL, Huang HH, Lan DM, Wang YH, Yang B. 2014. Typoselectivity of crude *Geobacillus* sp T1 lipase fused with a cellulose-binding domain and its use in the synthesis of structured lipids. *Journal of the American Oil Chemists' Society.* 91: 55-62.
- Rizliya V, Mendis E. 2014. *Biological, physical, and chemical properties of fish oil and industrial 811 applications.* In *Seafood Processing By-Products.* New York (USA): Springer.
- Rozi A, Suseno SH, Jacob AM. 2016. Ekstrak dan karakterisasi minyak hati cucut pisang. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia.* 19(2): 100-109.
- Sari RN, Utomo BSB, Basmal J, Kusumawati R. 2015. Pemurnian minyak ikan hasil sampling (*pre-cooking*) industri pengalengan ikan lemuru (*Sardinella lemuru*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia.* 18(3): 276-286.
- Saberi AH, Lai OM, Toro-Vasquez JF. 2011. Crystallization kinetics of palm oil

- blends with palm-based diacylglycerol. *Food Res Int.* 44: 425-435
- Sathivel S. 2005. Thermal and Flow Properties of Fish Oils. <http://folk.ntnu.no/skoeg/prost/proceedings/aiche2005/topical/pdffiles/T9/papers/554d.pdf>. (08 Juni 2018).
- Savaghebi D, Safari M, Rezaei K, Ashtari P, Farmani J. 2012. Structured lipids produced through lipase-catalyzed acidolysis of canola oil. *Journal of Agricultural Science and Technology.* 14:1297-310.
- Sharma R, Chisti Y, Banerjee UC (2001) Production, purification, characterization and applications of lipases. *Biotechnology Advances.* 19(8): 627-662.
- Sousa J, Souza A, Torres A, Freire D. 2015. Production of MLM-Type structured lipids from fish oil catalyzed by thermomyces lanuginosus lipase. *BMC Proceedings.* 8 (Suppl 4): p44
- Standal IB, Axelson DE, Aursand M. 2009. Differentiation of fish oils according to species by ¹³C-NMR regiospecific analyses of triacylglycerols. *Journal of the American Oil Chemists' Society.* 86: 401-407.
- Subroto E, Hidayat C, Supriyadi. 2008. Interesterifikasi enzimatis minyak ikan dengan asam laurat untuk sintesis lipid terstruktur. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan.* 19(2): 105-112.
- Wang Y, Xia L, Xu X, Xie L, Duan Z. 2012. Lipase catalyzed acidolysis of canola oil with caprylic acid to produce medium-long-and medium-chain-type structured lipids. *Food and Bioproducts Processing.* 90: 707-712
- Widianto WN, Ibrahim R, Anggo AD. 2015. Pengaruh suhu pengolahan dengan metode steam jacket sederhana terhadap kualitas minyak hati ikan pari mondol. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia.* 18(1): 11-18.
- Willis WM, Marangoni AG. 2002. Enzymatic Interesterification. Akoh CC dan Min DB (ed). *Food Lipids Chemistry, Nutrition, and Biotechnology* 2nd ed. New York (USA): Marcell Dekker Inc
- Xu X, Porsgaard T, Zhang H, Adler-Nissen J, and Høy CE. 2002. Production of Structured Lipids in a Packed-Bed Reactor with Thermomyces lanuginosa Lipase. *Journal of the American Oil Chemists' Society.* (79)6: 561-565.
- Zhang H, Xu X, Nilsson J, Mu H, Adler-Nissen J, Høy CE. 2001. Production of margarine fats by enzymatic interesterification with silica-granulated Thermomyces lanuginos a lipase in a large-scale study. *Journal of the American Oil Chemists' Society.* 78(1): 57-64.